# 施氮量对间作小麦蚕豆根系分泌大豆异黄酮的影响

刘英超 [1]；肖靖秀 [1]；汤利 [1]；郑毅 [1, 2]

(1. 云南农业大学资源与环境学院　昆明　650201; 2. 云南省教育厅　昆明　650223)

**摘　要:** 通过盆栽和水培试验，采用小麦//蚕豆、蚕豆单作、小麦单作 3 种种植方式，研究了不同生育期不同氮水平(低氮、常规施氮和高氮)处理下，单间作小麦和蚕豆根系大豆异黄酮分泌量的变化，为进一步探明间作增产和控病机制提供依据。结果表明，随施氮量增加，小麦蚕豆根系大豆异黄酮分泌量均减少，小麦拔节期(出苗后 60 d)，与低氮处理相比，常规施氮和高氮处理下，单间作小麦大豆异黄酮分泌量分别显著减少 28.9%、72.7%和 18.9%、122.1%。与低氮相比，常规施氮和高氮处理下，分枝期(出苗后 60 d)间作蚕豆大豆异黄酮分泌量分别显著减少 30.7%和 53.5%，单作差异不明显；开花期(出苗后 95 d)间作蚕豆分别显著减少 38.5%和 124.4%，单作分别显著减少 43.0%和 67.2%；结荚期(出苗后 131 d)间作蚕豆分别显著减少 40.2%和 123.5%，单作分别显著减少 53.8%和 75.6%。间作可以提高作物根系大豆异黄酮的分泌量。与单作相比，低氮和常规施氮条件下，拔节期(出苗后 60 d)和开花期(出苗后 95 d)，间作小麦根系分泌大豆异黄酮的量分别显著增加 22.5%、35.6%和 28.8%和 7.9%。与单作相比，低氮和常规施氮条件下，分枝期(出苗后 60 d)、开花期(出苗后 95 d)和结荚期(出苗后 131 d)，间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别显著增加 44.2%、12.8%，39.8%、46.0%和 16.0%、27.0%。总之，间作种植和施氮量均影响作物根系大豆异黄酮分泌量。

**关键词:** 小麦蚕豆间作；施氮量；根系分泌物；大豆异黄酮

中图分类号：S311

# Effect of nitrogen application rate on soy isoflavone exuded by roots in wheat and faba bean intercropping system

LIU Yingchao[1], XIAO Jingxiu[1], TANG Li[1], ZHENG Yi[1, 2]

(1. College of Resources and Environmental Science, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Yunnan Provincial Department of Education, Kunming 650223, China)

**Abstract:** By pot and water cultural experiments of wheat//faba bean, monocropped faba bean and monocropped wheat, soy isoflavone of faba bean and wheat were studied under different nitrogen (deficiency, adequate and excessive) levels at different growth date, it maybe provide basis for further understanding the mechanism of yield increase and disease control in intercropping. The results showed that, with the increasing of nitrogen application rate, the content of soy isoflavone was decreased secreted both by wheat and faba bean, during the stem elongation stage (60 d), compared with deficiency nitrogen treatment, the secretion of soy isoflavone in intercropped wheat were increased by 18.9% and 122.1%, correspondingly, the secretion of soy isoflavone in monocropped wheat were increased by 28.9% and 72.7% both under low and adequate nitrogen level. Compared with low nitrogen level, the content of soy isoflavone in intercropped faba bean roots were decreased by 30.7% and 53.5% at adequate and excessive nitrogen application rate during the branching period (60 d); the content of soy isoflavone in intercropped faba bean roots were reduced by 38.5% and 124.4% and monocropped faba bean roots were reduced by 43.0% and 67.2% during flowering stage (95 d); the content of soy isoflavone in intercropped faba bean roots were reduced by 40.2% and 123.5% and monocropped faba bean roots were reduced by 53.8% and 75.6% during podding stage (131 d) of the faba bean. Intercropping can also improve the soy isoflavone secretion of roots. Compared with monocropped wheat, under deficiency and adequate nitrogen application, during the stem elongation period of wheat (60 d), the content of soy isoflavone in intercropped wheat root secretion were increased by 22.5% and 35.6%; during flowering stage of wheat (95 d), intercropped wheat root secretion were increased by 28.8% and 7.9% than monocropping. Compared with monocropped faba bean, under deficiency and adequate nitrogen application rate, during branching stage of faba bean (60 d), the intercropped faba bean root secretion were increased by 44.2% and 12.8%; during flowering stage of faba bean (95 d), the intercropped faba bean were increased by 39.8% and 46.0% than monocropping; during podding stage of faba bean (131 d), intercropped faba bean root secretion were increased by 16.0% and 27.0% than monocropping. In short, both intercropping system and nitrogen fertilizer could change the secretion of soy isoflavone secreted both by wheat and faba bean roots.

**Key words:** Wheat; Faba bean; Intercropping; Nitrogen; Soy isoflavone

植物根系作为植物体的吸收和代谢器官，它对于外界环境条件反应非常敏感[1]。大量研究表明，植物根系及其分泌物质在植物营养和病害调控方面具有十分重要的作用[2-3]。因此，根系分泌物的研究一直为人们

关注的热点。

近年来，关于根系分泌物在轮作、间作等种植体系中的作用，国内外已有大量的研究和报道。而黄酮类根系分泌物质作为被根瘤菌感知的初始信号，在豆科作物结瘤过程中起关键作用[4]。关于豆科植物根系分泌的黄酮类物质的发现主要集中在单作大豆(*Glycine max* (L.) Merr)、苜蓿(*Medicago* sativa)、豌豆(*Pisum sativum* Linn)和木豆(*Cajanus* cajan)上，并且在这些豆科作物根系分泌物中先后发现了柑桔素、圣草酚、芹菜素、毛地黄黄酮、槲皮黄酮等黄酮类物质[5-8]。大豆异黄酮作为植物根系分泌的一种普遍的黄酮类物质，有报道称该物质具有抗溶血，抗氧化，诱导大豆结瘤，抗病原菌生长等生理活性，在植物体内可作为保护性物质保护植物正常生长，抵制病虫侵害[9]。另外，有研究表明，大豆异黄酮是大豆根瘤菌结瘤基因的诱导物质[10]，并且还是大豆组织对疫霉根腐病菌侵染的反应物质[11]。但这些发现均是在单作条件下的研究结果，间作种植尤其不同施氮水平下对黄酮类物质分泌的影响并不清楚。

小麦(*Tricum aestivum* L. cv.)蚕豆(*Vicia faba* L. cv.)间作是云南乃至西南地区重要的间作种植模式，具有显著的增产[12]、控病优势[13]，是农民增产增收的重要手段之一[14]。前人的研究已经明确了小麦蚕豆间作系统中养分的吸收利用规律[15-16]、病害发生规律[17]、根际微生物的动态变化特征[18]、根际有机酸酚酸等的分泌特点[19]，表明间作对产量增加，病害控制和根际微生物的变化有重要影响，对根系分泌物的变化有明显调节作用，但是间作对这种影响作用是否受到不同施氮水平的调控并不清楚。本研究以小麦蚕豆间作为研究对象，通过建立高效液相色谱(HPLC)分析技术，结合前人在小麦蚕豆根系分泌物研究的已有结果，系统探讨不同时期不同氮水平条件下，间作小麦和蚕豆根系分泌大豆异黄酮的动态变化及累积特征，为进一步探明间作增产和控病机制提供依据。

## 1　材料与方法

### 1.1　供试材料与作物品种

供试材料：盆栽试验于 2014 年 10 月－2015 年 5 月在云南农业大学植物营养系温室内完成，试验种植土取自云南农业大学后山红壤，基本理化性质为：碱解氮 68 mg kg$^{-1}$，速效磷 16 mg kg$^{-1}$，速效钾 137 mg kg$^{-1}$, pH 6.08，有机质 28.07 mg kg$^{-1}$。

试验所用盆钵大小为 238 mm×320 mm，每盆装土 10 kg。水培试验培养液采用莫拉德配方表(mol L$^{-1}$): $K_2SO_4$ 0.75×10$^{-3}$、$MgSO_4$ 0.65×10$^{-3}$、KCl 0.1×10$^{-3}$、$Ca(NO_3)_2$ 2.0×10$^{-3}$、$KH_2PO_4$ 0.25×10$^{-3}$、$H_3BO_3$ 1.0×10$^{-5}$、Mn-$SO_4$ 1.0×10$^{-6}$、$CuSO_4$ 1.0×10$^{-7}$、 $ZnSO_4$ 1.0×10$^{-6}$、$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ 5.0×10$^{-6}$ 和 Fe-EDTA 1.0×10$^{-4}$。试验所用容器为容积 3 L 的 PVC 桶，桶大小为 160 mm×240 mm。

作物品种：供试小麦品种为‘云麦 42’，蚕豆品种为‘玉溪大粒豆’，种子均由云南省农业科学研究院粮食作物研究所提供。

### 1.2　试验设计

小麦蚕豆间作试验采用盆栽和水培两种模式完成。试验设计为两因素试验，A 为种植方式，设小麦//蚕豆、小麦单作、蚕豆单作 3 种种植模式; B 为氮肥施用水平，设低氮、常规施氮(推荐)和高氮 3 种氮素供应水平。其中，所有试验低氮处理均为推荐施氮量的一半，高氮处理为推荐施氮量的 1.5 倍。盆栽和水培试验均为 9 个处理，每个处理 3 次重复，采样 4 次，共计 108 桶。水培试验每盆移栽的幼苗为间作 4 株蚕豆、8 株小麦，单作 8 株蚕豆, 16 株小麦；土培试验为间作 6 株蚕豆、12 株小麦，单作 12 株蚕豆、24 株小麦，均分 2 行种植。

所用肥料：盆栽试验所用氮肥为尿素，正常氮肥施用量为 150 mg kg$^{-1}$，低氮用量为 75 mg kg$^{-1}$，高氮用量为 225 mg kg$^{-1}$；磷肥品种为过磷酸钙，施用量为 100 mg kg$^{-1}$；钾肥为硫酸钾 100 mg kg$^{-1}$。磷钾肥全部作为基肥一次性施入；氮肥 1/2 为基肥, 1/2 为追肥，并于拔节期追施。氮肥追施时仅施用于间作处理的小麦一侧，蚕豆均不施用追肥。水培试验所用氮肥为 $Ca(NO)_3$ 溶液，其供应浓度为 2.0×10$^{-3}$ mol L$^{-1}$。幼苗期常规施氮处理添加 $Ca(NO)_3$ 溶液 50 mL，低氮处理添加 25 mL，高氮处理添加 75 mL，并随生育期变化调整用量。

管理方式:整个生长过程中，单间作小麦、蚕豆采用统一的肥水管理措施。盆栽试验每 7 天浇水一次，使

土壤水分达到田间持水量的 70%; 水培试验营养液每 3 天更换一次, 且营养液内保持通气, pH 值控制在 6.8～6.95 范围内。

### 1.3 样品收集

分别于出苗后 60 d、95 d 和 131 d (小麦分别处于拔节期、开花期和灌浆期; 蚕豆分别处于分枝期、开花期和结荚期)采集植株样品, 收取根系分泌物。根系分泌物收集方法: 将盆栽和水培植株分别从培养容器中小心取出, 先用自来水反复冲洗植株根, 后用蒸馏水冲洗 3 次, 冲洗后放入 5%浓度百里酚溶液中浸泡 3 min, 取出后放入装有 500 mL 0.005 mol·L$^{-1}$ $CaCl_2$ 溶液的收集袋中, 将袋子放入原生长容器中, 每次采样 10:00 开始, 通气收集根系分泌物 2 h, 收集后将植株取出, 收集液整理后存放在–20 ℃ 冰箱冷冻备用[19]。将成熟期植株样品收集后烘干称重, 测定作物产量。

### 1.4 样品处理与测定

将收集的根系分泌物解冻后用滤纸过滤, 分别用 200 mL、100 mL、50 mL 乙酸乙酯萃取过滤液 3 次, 将 3 次萃取液混匀后倒入旋转蒸发仪中蒸发浓缩, 浓缩液用甲醇冲洗并定容至 10 mL 备用。将准备好的 10 mL 样品过 0.45 μm 滤膜后放入 HPLC 中测定大豆异黄酮含量。

试验所用色谱柱为 Synergi 4u Hydro-RP 80A (250 mm×4.6 mm ID), 测定流动相 A 为色谱纯甲醇, B 为超纯水, 洗脱条件为: A 30%~40% (5 min)→40%~60% (10 min)→60%~90% (25 min)→90% (29 min)→90%~30% (34 min)→30% (37 min)→停止洗脱(37 min)。液相色谱测定条件: 波长 270 nm、柱温 30 ℃、流速 0.9 mL·min$^{-1}$, 在选定的色谱条件下, 得到大豆异黄酮(1000 ng·mL$^{-1}$)的混合标准品及待测样品的色谱图[20]。检测限为 10 ng·mL$^{-1}$, 根据保留时间来确定目标黄酮, 通过外标法计算出大豆异黄酮含量。

### 1.5 数据处理与分析

数据采用 Microsoft Excel 2010 软件进行处理和绘图, 采用 SPSS 19.0 统计分析软件对数据进行差异显著性检验(Duncan 法, α=0.05)。

## 2 结果与分析

### 2.1 施氮量对间作小麦蚕豆籽粒产量的影响

试验结果表明(表 1), 随施氮量增加, 小麦蚕豆籽粒产量均明显增加。与低氮处理相比, 盆栽试验中, 常规施氮和高氮小麦籽粒产量分别显著增加 29.3%和 50.4%, 蚕豆籽粒产量分别显著增加 27.2%和 37.2%; 水培试验中, 常规施氮和高氮小麦籽粒产量分别显著提高 17.6%和 29.0%, 蚕豆籽粒产量分别显著提高 15.4%和 21.0%。

表 1 不同施氮量对小麦//蚕豆系统籽粒产量的影响

Table 1 Grain yield of wheat and faba bean intercropping system under different nitrogen application rates g·plant$^{-1}$

| 处理 Treatments | 盆栽 Soil experiment | | | 水培 Hydroponic experiment | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | N/2 | N | 3N/2 | N/2 | N | 3N/2 |
| IF | 4.26±0.15c | 5.48±0.22b | 5.98±0.24a | 4.84±0.19c | 5.62±0.11b | 6.06±0.07a |
| MF | 3.22±0.13d | 4.19±0.15c | 5.27±0.11b | 4.26±0.20d | 5.08±0.12c | 5.68±0.07b |
| IW | 3.47±0.14bc | 4.19±0.17a | 4.42±0.11a | 5.22±0.12c | 5.95±0.06b | 6.29±0.12a |
| MW | 2.42±0.13d | 3.30±0.17c | 3.66±0.03c | 4.45±0.09d | 5.21±0.11c | 5.41±0.12c |

IF-间作蚕豆, MF-单作蚕豆, IW-间作小麦, MW-单作小麦; N/2-低氮, N-常规施氮, 3N/2-高氮; 不同小写字母表示同一试验同种作物不同处理间差异达到 5%显著水平。

IF-intercropped faba bean, MF-monocropped faba bean, IW-intercropped wheat, MW-monocropped wheat; N/2-deficient nitrogen, N-adequate nitrogen, 3N/2-excessive nitrogen; different lowercase letters of the same experiment, the same plant and different treatments mean significant difference at 5% level.

试验结果还表明(表 1), 相同氮水平条件下, 间作明显促进作物籽粒产量增加, 但增加量随施氮量增加而减少。盆栽试验中, 不同氮水平条件下(N/2、N、3N/2), 间作小麦籽粒产量相对于单作分别增加 20.9%～43.4%, 间作蚕豆籽粒产量相对于单作分别增加 13.5～32.3%。水培试验中, 不同氮水平下(N/2、N、3N/2), 间

作小麦籽粒产量相对于单作分别增加 14.3%～17.3 %，间作蚕豆籽粒产量相对于单作分别增加 6.7%～13.6%。

### 2.2 施氮量对间作小麦根系分泌大豆异黄酮的影响

由表 2 可以看出，随着作物生育期的推移，小麦根系分泌大豆异黄酮数量明显减少，高氮条件下，小麦灌浆期(出苗后 131 d)根系分泌物中未检测出大豆异黄酮。

由表 2 还可以看出，同一生育时期，随施氮量增加，小麦根系分泌大豆异黄酮数量减少。盆栽试验中，与低氮处理相比，小麦拔节期(出苗后 60 d)，常规施氮和高氮条件下，间作小麦大豆异黄酮分泌量分别减少 36.6%和 104.8%，单作小麦大豆异黄酮分泌量分别减少 18.1%和 49.6%；小麦开花期(出苗后 95 d)，常规施氮和高氮条件下，间作小麦大豆异黄酮分泌量分别减少 43.4%和 75.9%，单作小麦大豆异黄酮分泌量分别减少 13.1%和 15.5%。水培试验中，小麦拔节期(出苗后 60 d)，与低氮处理相比，常规施氮和高氮条件下，间作小麦大豆异黄酮分泌量分别减少 1.3%和 139.4%，单作小麦大豆异黄酮分泌量分别减少 39.8%和 95.7%。

由表 2 还可以看出，同一生育期内，相同氮水平条件下，间作提高了小麦根系分泌大豆异黄酮的数量。尤其低氮和常规施氮条件下，小麦拔节期(出苗后 60 d)，与单作相比，盆栽试验间作小麦根系分泌大豆异黄酮的量分别增加 29.6%和 12.0%，水培试验间作小麦根系分泌大豆异黄酮的量分别增加 15.3%和 59.2%；高氮条件下，两试验单间作小麦根系分泌大豆异黄酮量差异性均不显著。小麦开花期(出苗后 95 d)，除盆栽试验中低氮条件下间作小麦根系大豆异黄酮分泌量比单作提高 71.4%外，其他供氮水平下单间作差异不明显。

表 2 不同施氮量对单间作小麦根系分泌大豆异黄酮的影响

Table 2 Soy isoflavone secreted by mono- and inter-cropping wheat root under different N rates　　ng plant$^{-1}$ h$^{-1}$

| 处理 Treatments | | 盆栽 Soil experiment 60 d | 95 d | 131 d | 水培 Hydroponic experiment 60 d | 95 d | 131 d |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| N/2 | IW | 105.83±3.26a | 85.00±2.40a | 45.00±1.84a | 98.75±2.36a | 87.50±2.55a | 22.50±2.44a |
| | MW | 81.67±2.60b | 49.58±2.76cd | 47.08±1.82a | 85.63±1.40b | 84.38±1.30a | 15.75±1.59a |
| N | IW | 77.50±2.07b | 59.17±2.71b | 31.25±2.21b | 97.50±1.81a | 55.00±1.60b | —— |
| | MW | 69.17±2.77c | 57.08±1.27bc | 30.42±1.21b | 61.25±2.79c | 48.75±2.38b | —— |
| 3N/2 | IW | 51.67±1.48d | 48.33±2.51d | —— | 41.25±2.43d | —— | —— |
| | MW | 54.58±2.22d | 42.92±2.95d | —— | 43.75±2.09d | —— | —— |

IW-间作小麦, MW-单作小麦; N/2-低氮, N-常规施氮, 3N/2-高氮; 同列数据后不同字母表示在 $p\leq0.05$ 水平下差异性显著, —表示未检测到目标。IW-intercropped wheat, MW-monocropped wheat; N/2-deficient nitrogen, N-adequate nitrogen, 3N/2-excessive nitrogen; different letters in the same line mean significant difference at 5% level, —means did not detected target.

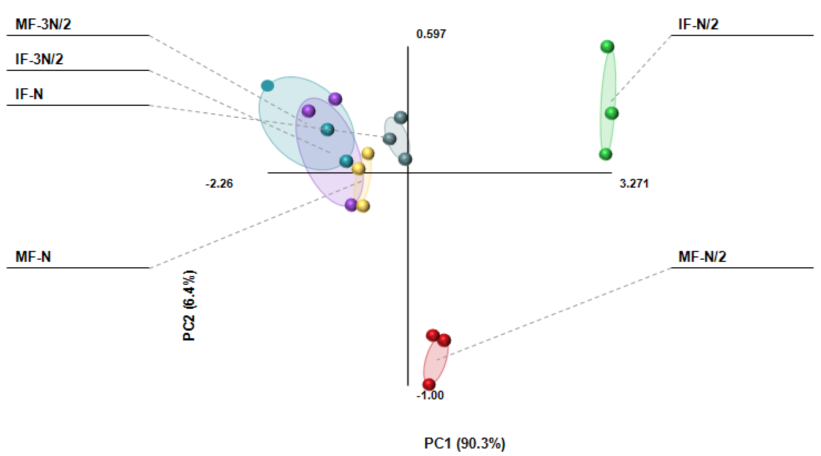
### 2.3 施氮量对间作蚕豆根系分泌大豆异黄酮的影响

PLS-EDA 分析可以将抽象对象的集合分组成由性质相同的对象组成的多个类别，可以更直观地显示各研究对象之间的远近关系。盆栽试验中，PLS-EDA 分析表明(图 1)，在 PC1 上，单间作蚕豆不同氮水平处理有很好地分离，低氮处理单间作蚕豆均分布在正方向上，常规施肥和高氮处理单间作蚕豆均分布在负方向上；在 PC2 上，低氮处理单作蚕豆在负方向上，低氮处理间作蚕豆在正方向上，常规施肥和高氮处理单间作蚕豆差异不显著。说明相比于常规施氮和高氮处理，低氮条件蚕豆根系分泌物大豆异黄酮类物质更明显，同时说明低氮条件下单间作蚕豆分泌大豆异黄酮物质差异性显著。水培试验中，PLS-EDA 分析表明(如图 2)，在 PC1 上，不同氮水平处理单间作蚕豆也有很好分离，低氮处理单作蚕豆在正方向上，常规和高氮处理单作蚕豆在负方向上，同时，低氮和常规施氮处理间作蚕豆在正方向上，高氮处理间作蚕豆在负方向上，说明无论是单作还是间作，低氮处理与高氮均存在明显差异；PC2 上，低氮间作蚕豆在正方向上，低氮单作蚕豆在负方向上，说明在 PC2 方向上，仅低氮条件下单间作蚕豆处理存在差异。

进一步方差分析结果表明(图 3 和图 4)，随着生育期推移，蚕豆根系分泌大豆异黄酮数量先增加后减少，蚕豆开花期(95 d)时，两试验中分泌量均达到最大值，不同的是，盆栽试验中，蚕豆分枝期(60 d)时，分泌量最少，水培试验中，蚕豆结荚期(131 d)时，分泌量最少。

图 3 和图 4 结果还表明，相同生育期内，随施氮量的增加，蚕豆根系大豆异黄酮的分泌量减少。盆栽试验中，与低氮处理相比，蚕豆分枝期(60 d)，常规施氮和高氮条件下间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别减

少 11%和 40.7%，单作蚕豆差异不明显；蚕豆开花期(95 d)，常规施氮量和高氮条件下间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别减少 39.5%和 154.4%，单作蚕豆分别减少 16.3%和 37.4%；蚕豆结荚期(131 d)，常规施氮量和高氮条件下间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别减少 27.6%和 188.4%，单作蚕豆分别减少 34.9%和 56.8%。水培试验中，与低氮条件相比，蚕豆分枝期(60 d)期，常规施氮量和高氮条件下间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别减少 50.3%和 66.3%，单作蚕豆差异不明显；蚕豆开花期(95 d)，常规施氮量和高氮条件下间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别减少 37.4%和 94.4%，单作蚕豆分别减少 69.7%和 97.1%；蚕豆结荚期(131 d)，常规施氮量和高氮条件下间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别减少 52.8%和 58.5%，单作蚕豆分别减少 72.7%和 94.5%。




IF-间作蚕豆, MF-单作蚕豆。IF-intercropped faba bean, MF-monocropped faba bean.

图 1　盆栽试验不同氮水平下单间作蚕豆根系分泌大豆异黄酮 PLS-EDA 分析

Fig. 1　PLS-EDA analysis of soy isoflavone at different nitrogen treatment of monocropped and intercropped faba bean in soil experiment

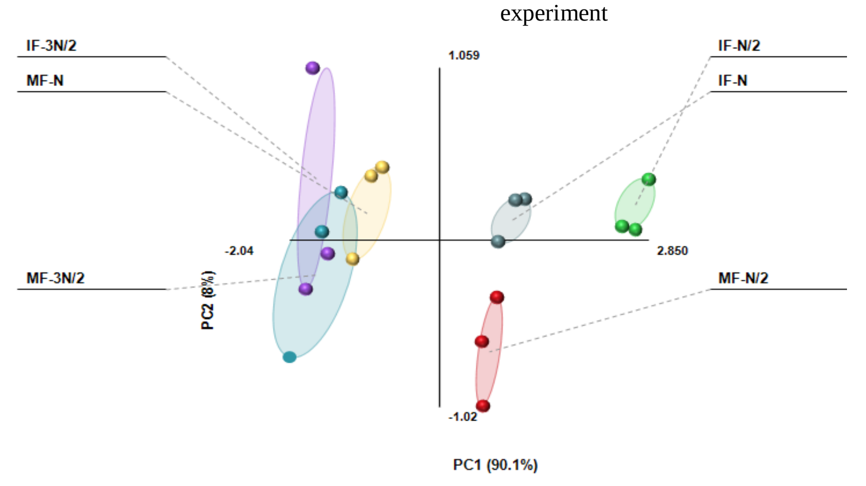
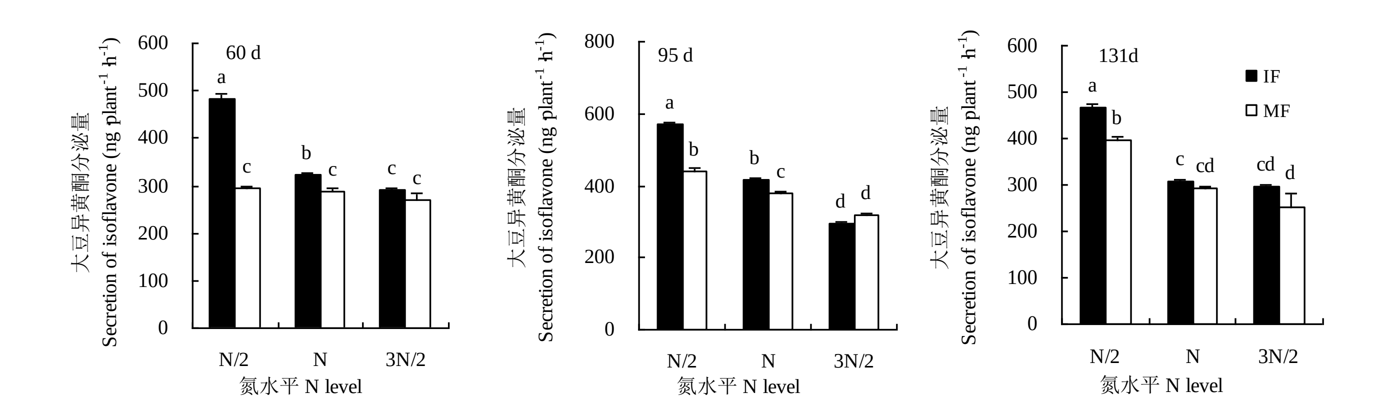



图 2　水培试验不同氮水平下单间作蚕豆根系分泌大豆异黄酮 PLS-EDA 分析

Fig. 2　PLS-EDA analysis of soy isoflavone at different nitrogen treatment of monocropped and intercropped faba bean in hydroponic experiment

图 3 和图 4 结果还表明，同一生育期内，低氮和常规施氮条件下，间作蚕豆根系分泌大豆异黄酮数量明显高于单作。盆栽试验中，与单作蚕豆相比，蚕豆分枝期(60 d)，低氮和常规施氮条件下，间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别增加 64.6%和 11.4%，蚕豆开花期(95 d)，低氮和常规施氮条件下，间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别增加 29.9%和 9.9%；蚕豆结荚期(131 d)，低氮条件下，间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量增加 18%。水培试验中，与单作蚕豆相比，低氮和常规施氮条件下，蚕豆分枝期(60 d)，间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别增加 23.8%和 14.1%，蚕豆开花期(95 d)，间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别增加 49.6%和 82%，蚕豆结荚期(131 d)，间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量分别增加 14%和 54%。试验中，不同生育期内，高氮条件下，单间作蚕豆根系大豆异黄酮分泌量差异不显著。




图中不同字母表示在 p≤0.05 水平差异性显著。Different letters mean significant difference at 5% level.

图 3 盆栽试验不同处理蚕豆根系分泌大豆异黄酮差异比较

Fig. 3 Soy isoflavone secreted by faba bean root at different treatments in soil experiment

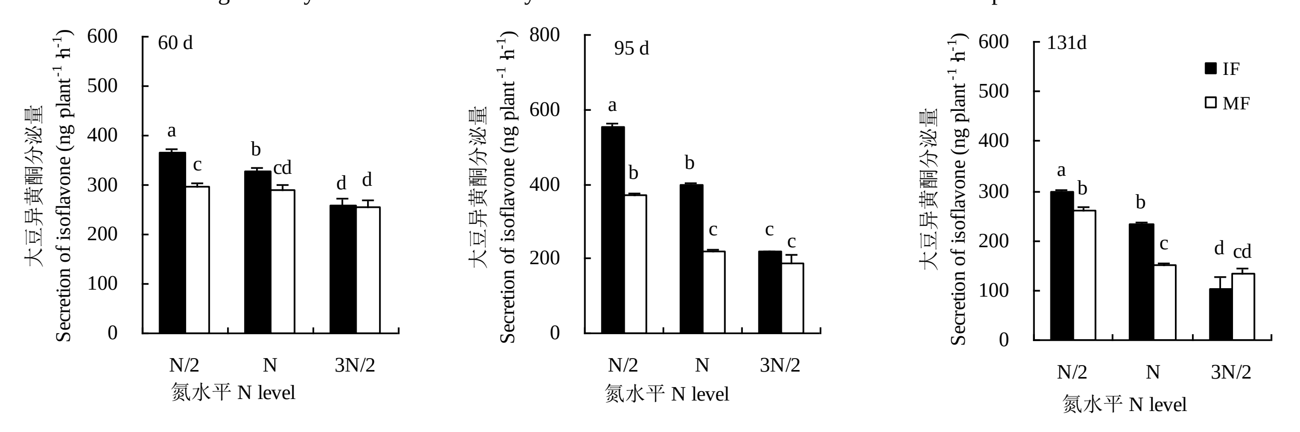



图 4 水培试验不同处理蚕豆根系分泌大豆异黄酮差异比较

Fig. 4 Soy isoflavone secreted by faba bean root at different treatments in hydroponic experiment

图中不同字母表示在 p≤0.05 水平差异性显著。Different letters mean significant difference at 5% level.

## 3 讨论

已有研究表明，不施氮肥或者氮肥施用量较低(50 kg·hm$^{-2}$)时，岷山红三叶(*Trifolium* pratense)不同生育期异黄酮含量均较高；随着施肥量增加，异黄酮含量降低[21-22]。本试验研究具有与之相类似结果。作物不同生育期，随施氮量增加，小麦蚕豆根系大豆异黄酮分泌量均明显减少，作物生长 95 和 131 d 时，小麦高氮条件下未检测出大豆异黄酮。这可能是因为大豆异黄酮作为根瘤菌结瘤基因的诱导物质，低氮条件下，为满足正常的生理和生长需要，作物大量固定氮素，根系大量分泌大豆异黄酮类诱导物质，刺激根瘤菌结瘤固氮，常规施肥和高氮条件下，氮素能满足作物的生长需求，作为调节结瘤固氮的诱导物质，大豆异黄酮的分泌量也较少。

合系-41 杂交稻与黄壳糯间作可以显著增加黄壳糯叶片的类黄酮含量。卢国理等研究表明，与单作黄壳糯相比，在黄壳糯在移栽后 78、88、94、108 d，$N_{300}$ 间作黄壳糯叶片的类黄酮含量显著增加，增幅分别为 9.5%、15.9%、15.9%、33.2%; $N_{180}$ 间作黄壳糯在移栽后 88、94、108 d 时，叶片类黄酮含量也比单作分别增加了 8.7%、4.8%、22.5%[23]。本试验研究表明，间作可以显著提高作物大豆异黄酮的分泌量，但间作这种优势仅在低氮和常规施氮处理下明显，高氮处理下，单间作小麦蚕豆根系分泌大豆异黄酮数量差异不显著，并且这种间作效应会随生育期的推移逐渐消失。

从本试验结果来看，小麦根系分泌大豆异黄酮的最大量是在分蘖至拔节期(60 d)，并随生育期的推移逐渐减少，小麦灌浆期(131 d)分泌量最少，且高氮条件下，小麦根系未检测出大豆异黄酮的分泌，与之不同的是，随生育期的推移，蚕豆根系大豆异黄酮的分泌先增加后减少，蚕豆开花期(95 d)根系大豆异黄酮的

分泌达到最大量。本试验结果可以部分解释间作小麦蚕豆根系大豆异黄酮分泌量的互补作用，小麦分蘖至拔节期(60 d)时，根系大量分泌大豆异黄酮等黄酮类物质，但小麦为禾本科作物，自身不具有结瘤固氮的功能，与蚕豆互作后，根系分泌物质移动并刺激相邻作物，诱导蚕豆根系大豆异黄酮的分泌并结瘤固氮，蚕豆生长开花期(95 d)时，根系分泌的大豆异黄酮等黄酮类物质增加，大量积累的大豆异黄酮能够刺激蚕豆周围根瘤菌的活化[24]，进而促进蚕豆结瘤固氮，而相邻的小麦根系大豆异黄酮的分泌量逐渐减少，至蚕豆生长结荚鼓粒期(131 d)时，结瘤固氮作用已经完成，小麦蚕豆根系大豆异黄酮的分泌量均减少，并在高氮条件下，小麦根系未能检测出大豆异黄酮。

综上所述，本研究中，从研究方法来看，土培和水培试验中，作物根系分泌物的收集均采用取出植株样品后放入收集液中定时采集，样品采集过程中会存在一定人为的影响因素，故两个试验结果存在一定偏差，但目前的研究尚未有更为精准的根系分泌物收集方法，在今后的根际研究中，应采用更为准确的根系分泌物采样方法，以便更好地进行根际研究。从本试验研究结果来看，间作种植方式和氮肥施用量均影响小麦和蚕豆根系大豆异黄酮的分泌，进而影响结瘤固氮，最终影响产量的变化，但其中相互影响机理及对蚕豆结瘤固氮的影响过程仍需进一步研究和探讨。

## 4 结论

小麦与蚕豆籽粒产量均随施氮量增加而增加，与单作相比，间作提高了作物籽粒产量。间作种植方式和氮肥施用量均影响小麦和蚕豆根系分泌大豆异黄酮的数量。随施氮量增加，小麦蚕豆大豆异黄酮的分泌量均减少；试验中，高氮条件下，小麦生育后期(131 d)根系未检测出大豆异黄酮。低氮和常规施氮条件下，小麦拔节期(出苗后 60 d)和开花期(出苗后 95 d)，间作根系分泌大豆异黄酮的量分别高于单作 22.5%、35.6%和 28.8%和 7.9%；蚕豆分枝期(出苗后 60 d)、开花期(出苗后 95 d)和结荚期(出苗后 131 d)，间作根系大豆异黄酮分泌量分别增加 44.2%、12.8%, 39.8%、46.0%和 16.0%、27.0%；高氮条件下单间作差异均不显著，且这种间作效应随生育期推移逐渐不明显。

## 参考文献 References


[1] 董艳，董坤，汤利，等. 蚕豆根系分泌物中氨基酸含量与枯萎病的关系[J]. 土壤学报, 2015, 52(4): 919–925

Dong Y, Dong K, Tang L, et al. Relationship of free amino acids in root exudates with wilt disease (*Fusarium oxysporum*) of faba bean[J]. Acta Pedol Sin, 2015, 52(4): 919–925

[2] Fan F, Zhang F, Song Y, et al. Nitrogen fixation of faba bean (vicia faba L.) interacting with a non-legume in two contrastingintercropping systems[J]. Plant & Soil, 2006, 283(1–2): 275–286

[3] 刘晓燕，何萍，金继运. 氯化钾对玉米根系糖和酚酸分泌的影响及其与茎腐病菌生长的关系[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(5): 929–934

Liu X Y, He P, Jin J Y. Effect of potassium chloride on the exudation of sugars and phenolic acids by maize root and its relation to growth of stalk rot pathogen[J]. Plant Nutr Fert Sci, 2008, 14(5): 929–934

[4] Maj D, Wielbo J, Marek–Kozaczuk M, et al. Response to flavonoids as a factor influencing competitiveness and symbiotic activity of rhizobium leguminosarum[J]. Microbiological Research, 2010, 165(1): 50–60

[5] Li L, Li S M, Sun J H, et al. Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(27): 11192–6

[6] NOVÁK K, CHOVANEC P, ŠKRDLETA V, et al. Effect of exogenous flavonoids on nodulation of pea (*Pisum sativum* L.)[J].J Exp Bot, 2002, 53(375): 1735

[7] Li B, Knunbeinb A, Neugartb S, et al. Mixed cropping with maize combined with moderate UV-B radiations lead to enhanced flavonoid production and root growth in faba bean[J]. Journal of Plant Interactions, 2012, 7(4): 333–340

[8] Neumann G, Römheld V. The release of root exudates as affected by the plant physiological status[M]. Boca Raton, F L, USA: CRC Press, 2007

[9] Landini S, Graham M Y, Graham T L. Lactofen induces isoflavone accumulation and glyceollin elicitation competency in soybean[J]. Phytochemistry, 2003, 62(6): 865–74

[10] Delmonte P, Perry J, Rader J I. Determination of isoflavones in dietary supplements containing soy, Red Clover and kudzu: extraction followed by basic or acid hydrolysis[J]. Journal of Chromatography, 2006, 1107(1–2): 59–69

[11] 高荣海，张春红，赵秀红，等.大豆异黄酮研究进展[J]. 粮食与油脂, 2009, (5): 1–4
Gao R H, Zhang C H, Zhao X H, et al. Research progress on soybean isoflavone[J]. Journal of Cereals and Oils, 2009, (5): 1–4
[12] 冯晓敏，杨永，任长忠，等. 豆科–燕麦间作对作物光合特性及籽粒产量的影响[J]. 作物学报, 2015, 41(9): 1426–1434
Feng X M, Yang Y, Ren C Z, et al. Effects of legumes intercropping with oat on photosynthesis characteristics and grain yield[J]. Acta Agron Sin, 2015, 41(9): 1426–1434
[13] 吴娜，刘晓侠，刘吉利，等.马铃薯/燕麦间作对马铃薯光合特性与产量的影响[J]. 草业学报, 2015, 24(8): 65–72
Wu N, Liu X X, Liu J L, et al. Effects of intercropping potatoes with oats on the photosynthetic characteristics and yield of potato[J]. Acta Pratac Sin, 2015, 24(8): 65–72
[14] 张雷昌，汤利，郑毅. 根系互作对玉米大豆间作作物磷吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(5): 1142–1149
Zhang L C, Tang L, Zheng Y. Phosphorus absorption of crops affected by root interaction in maize and soybean intercropping system[J]. Plant Nutr Fert Sci, 2015, 21(5): 1142–1149
[15] Hauggaard-nielsen H, Gooding M, Ambus P, et al. Pea–barley intercropping for efficient symbiotic $N_2$-fixation, soil N acquisition and use of other nutrients in European organic cropping systems[J]. Field Crops Res, 2009, 113(1): 64–67
[16] Li X P, Li M, Hai N, et al. Effects of intercropping sugarcane and soybean on growth, rhizosphere soil microbes, nitrogen and phosphorus availability[J]. Acta Physiol Plant, 2013, 35(4): 1113–1119
[17] Waddington S R, Mekuria M, Siziba S, et al. Long-term yield sustainability and financial returns from grain legume-maize intercrops on a sandy soil in sub humid north central Zimbabwe[J]. Exp Agric, 2007, 43(4): 489–503
[18] Wang D, Yang S M, Tang F, et al. Symbiosis specificity in the legume-rhizobial mutualism[J]. Cell Microbiol, 2012, 14(3): 334–342
[19] 肖靖秀，郑毅，汤利. 小麦–蚕豆间作对根系分泌低分子量有机酸的影响[J]. 应用生态学报, 2014, 25(6): 1739–1744
Xiao J X, Zheng Y, Tang L. Effects of wheat and faba bean intercropping on root exudation of low molecular weight organic acids[J]. Chin J Appl Ecol, 2014, 25(6): 1739–1744
[20] 刘英超，肖靖秀，汤利，等. 施氮对不同分隔方式间作蚕豆根系分泌柚皮素的影响[J]. 植物生理学报，2017(6): 1097–1103
Liu Y C, Xiao J X, Tang L, et al. Effects of nitrogen application rate on the naringenin exudation from intercropped faba bean’s roots in different separation patterns[J]. Plant physiology journal, 2017(6): 1097–1103
[21] 刘晓玲，杜文华，宋超. 氮磷肥施用量对红三叶中异黄酮含量的影响[J]. 西北农业学报, 2010, 19(7): 159–163
Liu X L, Du W H, Song C. Effects of nitrogen and phosphorus fertilization on isoflavone content in red clover[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2010, 19(7): 159–163
[22] 谷文英，余 飞，陈 莹.不同生长时期红三叶异黄酮含量变化的研究[J].草原与草坪, 2006(3): 61–64
Gu W Y, Yu F, Chen Y. Study on the distribution of isoflavone in trifolium pratense at different growth stages[J]. Grassland and Turf, 2006(3): 61–64
[23] 卢国理，汤利，楚铁欧，等. 单/间作条件下氮肥水平对水稻总酚和类黄酮的影响[J]. 植物营养与肥料学报，2008，14 (6): 1064–1069
Lu G L, Tang L, Chu Y O, et al. Effect of nitrogen levels on the changes of phenol and flavonoid contents under rice monocropping and intercropping system[J]. Plant Nutr Fert Sci, 2008, 14(6): 1064–1069
[24] Li B, Li Y Y, Wu H M, et al. Root exudates drive interspecific facilitation by enhancing nodulation and $N_2$ fixation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(23): 6496–6501